

¹Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова²Національний інститут раку, Київ

ЗМІНИ ВМІСТУ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У КРОВІ ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ ПІД ВПЛИВОМ СПЕЦІАЛЬНОГО ЛІКУВАННЯ

С.А. Лисенко¹, С.І. Кіркільевський²

Адреса:

Лисенко Сергій Андрійович
21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56
Вінницький національний медичний
університет імені М.І. Пирогова
Тел.: (097) 579-18-41
E-mail: liss2001@ukr.net

Ключові слова: IL-6, TNF-α, рак легені, паранеопластичний ревматологічний синдром, радикальне хірургічне лікування, спеціальне консервативне лікування.

Дослідження присвячено вивченню та порівняльному аналізу вмісту прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6 (IL-6) та фактора некрозу пухлини альфа (TNF-α) в крові у хворих на рак легені (РЛ). Виявлено, що у пацієнтів з РЛ з проявами паранеопластичного ревматологічного синдрому (ПНРС) рівень IL-6 та TNF-α вищий на 81,1 та 97,7% відповідно на відміну від аналогічних значень у хворих без даного синдрому. Встановлено, що лише у хворих на РЛ з ПНРС під впливом хірургічного лікування відбувається достовірне зниження рівня IL-6 на 69,5% та TNF-α на 53,4%, що свідчить про регресію симптомів ПНРС після радикальних операцій. При застосуванні спеціального консервативного лікування констатують достовірне підвищення вмісту цитокінів у динаміці в пацієнтів з РЛ обох груп, що свідчить про незмінність проявів ПНРС на фоні проведеного лікування. Відсутність будь-якого спеціального лікування сприяє різкому зростанню рівня цитокінів через 1 міс, більш вираженому у хворих на РЛ з проявами ПНРС: IL-6 — на 99,3% та TNF-α — на 88,1%, що цілком підтверджує прогресування як РЛ, так і проявів ПНРС.

ВСТУП

Цитокіни — клас невеликих пептидів та білків (8–30 кДа), що регулюють міжклітинні та міжсистемні взаємодії в організмі, включаючи стимуляцію або пригнічення росту клітин, диференціацію, функціональну активність й апоптоз, а також забезпечують узгодженість дії імунної, ендокринної та нервової систем у нормальних умовах й у відповідь на патологічні дії. Цитокіни активні в дуже низьких концентраціях. Їх біологічний ефект на клітини реалізується через взаємодію зі специфічним рецептором, локалізованим на клітинній мембрані [5, 11].

Групування цитокінів за механізмом біологічної дії дозволяє розподілити їх на такі групи:

- прозапальні, що забезпечують мобілізацію запальної відповіді (інтерлейкіни (IL-6, IL-1β), фактор некрозу пухлини альфа (TNF-α));
- протизапальні — такі, що обмежують розвиток запалення (IL-4);
- регулятори клітинного та гуморального імунітету — природного або специфічного, що мають власні ефекторні функції (противірусні, цитотоксичні) [2, 4].

Одними із найважливіших медіаторів гострої фази запалення є IL-6 та TNF-α. За різноманітним джерелом продукції та мішеней біологічної дії IL-6 є одним із найбільш активних цитокінів, які беруть участь у реалізації імунної відповіді та запальної реакції [3, 14]. IL-6 продукується активованими моноцитами або макрофагами, ендотеліальними клітинами, фі-

бробластами, активованими Т-клітинами, а також клітинами, які не є імуніцитами. IL-6 є головним фактором росту та регуляції диференціювання активованих В-лімфоцитів в антитілопродукуючі клітини, стимулює вироблення фібрину, С-реактивного протеїну та інших прозапальних білків [1, 15]. Він відіграє провідну роль у рості пухлинних клітин при множинній мієломі та хворобі Кастельмана. IL-6 синтезується пухлинним мікрооточенням при великоклітинних лімфомах, і його інгібування може викликати протипухлинну дію [2, 17].

Інший цитокін, TNF-α (кахектин), — це поліпептидний цитокін, який вважають основним в ініціації багатьох патофізіологічних відповідей організму, також бере участь у системному запальному процесі, зокрема й при ревматологічних захворюваннях [7]. TNF-α індукує синтез IL-1 та IL-6, сприяє збільшенню рухливості лейкоцитів, проникності судин мікроциркуляторного русла, інтенсифікації апоптозу, що запускає каскад запальних процесів, які відіграють основну роль при різних видах запалення та в першу чергу при пухлинах [17]. Також він індукує цитотоксичні ефекти на ендотеліальні клітини, посилює до них адгезію нейтрофілів шляхом підвищення вироблення хемокинів й адгезивних молекул, збільшує судинну проникність безпосередньо через активацію нейтрофілів, підвищує ангіогенез [6, 9].

Отже, і визначення концентрації IL-6 та TNF-α в крові надає інформацію про функціональну активність різних типів імунікомпетентних клітин, про тяжкість

запального процесу, його перехід на системний рівень і прогноз захворювання [2, 10, 13].

Особливо цікавим та прогностично сприятливим є дослідження вмісту цитокінів ІЛ-6 та TNF- α при раку легені (РЛ) та при поєднанні його з паранеопластичним ревматологічним синдромом (ПНРС), що являє собою одночасний розвиток пухлинного та запального процесів [8, 12, 16]. Також актуальним є виявлення змін даних молекулярних маркерів у хворих на РЛ під впливом проведеного спеціального лікування.

Мета дослідження: визначення та порівняльний аналіз вмісту прозапальних цитокінів ІЛ-6 та TNF- α в плазмі крові у хворих на РЛ під впливом спеціального лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідження включено 182 хворих на РЛ, які перебували на лікуванні у торакальному відділенні Вінницького обласного клінічного онкологічного диспансеру протягом 2011–2012 рр. Усіх пацієнтів розподілено на 2 групи (табл. 1). Перша (контрольна) — 102 хворих на РЛ без проявів ПНРС. Друга група (дослідна) — 80 пацієнтів з РЛ з ПНРС. Залежно від проведеного лікування всіх хворих також поділено на 3 підгрупи:

- пацієнти, у яких виконано радикальне хірургічне втручання;
- хворі, які отримали спеціальне консервативне (хімотерапевтичне або променеве) лікування;
- пацієнти, яким не проведено спеціальної терапії, оскільки виявлено протипозазання до основних методів лікування.

Таблиця 1. Розподіл хворих за проявом ПНРС

| Проведене лікування | Характеристика груп хворих | |
|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| | РЛ без ПНРС (контрольна група) | РЛ з ПНРС (дослідна група) |
| Радикальне хірургічне | 43 | 36 |
| Спеціальне консервативне | 29 | 30 |
| Без спеціального лікування | 23 | 10 |
| Відмови | 7 | 4 |
| Усього | 102 | 80 |

Первинний забір крові у всіх хворих проводили перед початком спеціального лікування: хірургічного (радикальна операція) чи консервативного (хімотерапевтичне, променеве). Щоб оцінити досліджувані показники в динаміці, повторний забір крові виконували через 1 міс після початку лікування. Його проведено у всіх хворих за винятком 11 пацієнтів (7 — з першої та 4 — з другої групи), які після первинного встановлення діагнозу відмовилися від запропонованого спеціального лікування і вибули з дослідження. Взагалі забір крові проводили в стандартних умовах — з 8 до 9 год ранку, натще, після нічного голодування, з ліктьової вени в пробірці Vacuette (Австрія) без антикоагулянтів.

ЕДТА-плазму отримували центрифугуванням крові при 1500 г протягом 15 хв при 18–22 °С. Надалі аліквоти плазми відбирали в мікропробірки Eppendorf та до проведення досліджень зберігали при -20 °С.

Вміст ІЛ-6 та TNF- α в плазмі крові визначали імуоферментними методами з використанням стандартних наборів фірми «Diaclope» (Франція) та «IMMUNOTECH» (Франція). Дослідження проведено на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS.

Для оцінки кількісних результатів дослідження вираховували значення середнього (М) та похибку середнього (m) — $M \pm m$. Для порівняння середніх показників двох різних досліджуваних груп або до і після лікування в межах однієї підгрупи використовували параметричний t-критерій Стьюдента. Критичний рівень значущості p, з яким порівнювали досягнутий рівень значущості кожного статистичного критерію, у дослідженні вважали рівним 0,01. Статистичну обробку проводили за допомогою програмного забезпечення для статистичного аналізу Biostat та Excel 7.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні базового вмісту ІЛ-6 в плазмі крові хворих на РЛ встановлено, що в дослідній групі мали місце достовірно вищі значення цього показника відносно контрольної групи (табл. 2), а саме: у пацієнтів з РЛ без ПНРС він дорівнював $7,62 \pm 0,12$ нг/л, а у хворих на РЛ з проявами ПНРС — $13,8 \pm 0,22$ нг/л, що на 81,1% ($p < 0,01$) вище. Також встановлено, що первинний рівень TNF- α в плазмі крові хворих на РЛ з проявами ПНРС був достовірно вищим (на 97,7%; $p < 0,01$), ніж у пацієнтів без ПНРС.

При аналізі впливу різних методів лікування на вміст прозапальних цитокінів у плазмі крові хворих на РЛ без ПНРС виявлено такі зміни (табл. 3). Вміст ІЛ-6 у пацієнтів з РЛ без проявів ПНРС, які підлягали радикальному хірургічному лікуванню, достовірно не змінювався в динаміці. Також, за даними табл. 3, рівень TNF- α до початку лікування та через 1 міс після радикальної

операції у хворих цієї підгрупи змінювався незначно.

Таблиця 2. Вміст прозапальних цитокінів (ІЛ-6, TNF- α) у плазмі крові хворих на РЛ ($M \pm m$)

| Показник | Характеристика груп хворих | |
|----------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| | РЛ без ПНРС (контрольна група), n=102 | РЛ з ПНРС (дослідна група), n=80 |
| ІЛ-6, нг/л | $7,62 \pm 0,12$ | $13,8 \pm 0,22^*$ |
| TNF- α , нг/л | $60,2 \pm 2,27$ | $119 \pm 2,17^*$ |

Примітка: * $p < 0,01$ відносно контрольної групи.

У пацієнтів контрольної групи, які підлягали спеціальному консервативному лікуванню, встановлено, що рівень ІЛ-6 в плазмі крові достовірно підвищувався на 41,2% ($p < 0,01$) через 1 міс після початку терапії. Рівень TNF- α у хворих даної підгрупи становив: до лікування — $63,1 \pm 4,05$ нг/л, а через 1 міс після початку хімотерапевтичного або променевого лікування — $91,5 \pm 5,01$ нг/л, що свідчить про його достовірне підвищення на 45% ($p < 0,01$).

Також визначено, що у хворих на РЛ без проявів ПНРС, які не отримали жодного спеціального лікування (див. табл. 3) первинний рівень ІЛ-6 в плазмі крові сягав $7,52 \pm 0,28$ нг/л та через 1 міс без лікування — $11,1 \pm 0,33$ нг/л, тобто збільшувався на 47,6% ($p < 0,01$). Рівень TNF- α після прибуття в клініку та через 1 міс без спеціального лікування у даних хворих також достовірно підвищувався — на 53% ($p < 0,01$).

Аналізуючи вплив різних методів спеціального лікування на вміст прозапальних цитокінів у плазмі крові хворих на РЛ з проявами ПНРС виявлено суттєві відмінності їх рівнів на фоні проведеного лікування (табл. 4). Так, вміст ІЛ-6 в плазмі крові пацієнтів з РЛ з ПНРС, яким виконано радикальну операцію, становив: до початку лікування — $14,1 \pm 0,36$ нг/л та суттєво знижувався на 69,5% ($p < 0,01$) до $8,32 \pm 0,43$ нг/л через 1 міс після хірургічного втручання. Вміст TNF- α у цих хворих також суттєво зменшувався (на 53,4%; $p < 0,01$): до початку лікування він становив $123 \pm 3,34$ нг/л, а через 1 міс — $80,2 \pm 2,25$ нг/л.

У наступній підгрупі хворих на РЛ з ПНРС, які підлягали спеціальному консервативному лікуванню, визначено, що вміст ІЛ-6 в плазмі крові достовірно

Таблиця 3. Вплив лікування на вміст прозапальних цитокінів у плазмі крові хворих на РЛ без ПНРС ($M \pm m$)

| Показник | Хірургічне лікування, n=43 | | Консервативне лікування, n=29 | | Без лікування, n=23 | |
|----------------------|----------------------------|-----------------|-------------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| | До лікування | Через 1 міс | До лікування | Через 1 міс | Вихідні дані | Через 1 міс |
| | ІЛ-6, нг/л | $7,64 \pm 0,18$ | $8,06 \pm 0,16$ | $7,65 \pm 0,25$ | $10,8 \pm 0,28^*$ | $7,52 \pm 0,28$ |
| TNF- α , нг/л | $61,2 \pm 3,37$ | $66,9 \pm 3,07$ | $63,1 \pm 4,05$ | $91,5 \pm 5,01^*$ | $56,6 \pm 4,92$ | $86,6 \pm 5,20^*$ |

Примітка: * $p < 0,01$ відносно відповідної групи до лікування.

Таблиця 4. Вплив лікування на вміст прозапальних цитокінів у плазмі хворих на РЛ з проявами ПНРС ($M \pm m$)

| Показник | Хірургічне лікування, n=36 | | Консервативне лікування, n=30 | | Без лікування, n=10 | |
|----------------------|----------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------|---------------------|------------------|
| | До лікування | Через 1 міс | До лікування | Через 1 міс | Вихідні дані | Через 1 міс |
| | ІЛ-6, нг/л | $14,1 \pm 0,36$ | $8,32 \pm 0,43^*$ | $13,7 \pm 0,32$ | $20,0 \pm 0,34^*$ | $13,8 \pm 0,66$ |
| TNF- α , нг/л | $123 \pm 3,34$ | $80,2 \pm 2,25^*$ | $117 \pm 3,43$ | $176 \pm 4,08^*$ | $118 \pm 5,79$ | $222 \pm 9,15^*$ |

Примітка: * $p < 0,01$ відносно відповідної групи до лікування

збільшився в динаміці на 46% ($p < 0,01$). Слід відзначити, що і рівень TNF- α у хворих даної підгрупи також достовірно підвищувався — на 50,4% ($p < 0,01$): з $117 \pm 3,43$ нг/л — до лікування до $176 \pm 4,08$ нг/л — через 1 міс після початку спеціального лікування.

У ході дослідження з участю хворих на РЛ з проявами ПНРС, які не отримали жодного спеціального лікування (див. табл. 4), встановлено, що рівень IL-6 в плазмі крові підвищується майже вдвічі — на 99,3% ($p < 0,01$). Так, первинний рівень становив $13,8 \pm 0,66$ нг/л, а через 1 міс без лікування — $27,5 \pm 1,47$ нг/л. Одночасно констатували й значне підвищення рівня TNF- α в плазмі крові у хворих даної підгрупи: при прийомі в клініку — $118 \pm 5,79$ нг/л та $222 \pm 9,15$ нг/л — через 1 міс без спеціального лікування, тобто достовірне підвищення на 88,1% ($p < 0,01$).

Отже, на завершення слід додати, що у хворих на РЛ з ПНРС на відміну від аналогічних хворих без даного синдрому лише під впливом радикального хірургічного лікування відбувається суттєве зниження рівня цитокінів IL-6 та TNF- α відносно їх первинного рівня. Під впливом спеціального консервативного лікування спостерігається достовірне підвищення рівня IL-6 та TNF- α в динаміці у хворих на РЛ як з наявністю, так і без ПНРС. Без будь-якого спеціального лікування через 1 міс відбувається різке підвищення вмісту даних цитокінів, більш виражене у хворих на РЛ з проявами ПНРС.

ВИСНОВКИ

1. Виявлено підвищену активність прозапальних цитокінів у хворих на РЛ з проявами ПНРС: рівень IL-6 та TNF- α вищий на 81,1 та 97,7% відповідно на відміну від аналогічних показників у пацієнтів без даного синдрому.

2. Доведено, що лише у хворих на РЛ з ПНРС під впливом радикального хірургічного лікування відбувається достовірне зниження рівня IL-6 на 69,5% та рівня TNF- α на 53,4%, що свідчить про регресування симптомів ревматологічної паранеоплазії після радикальних оперативних втручань.

3. При застосуванні спеціального консервативного лікування спостерігається достовірне підвищення рівня прозапальних цитокінів у динаміці як у хворих на РЛ з наявністю ПНРС (IL-6 на 46% та TNF- α на 50,4%), так і без даного синдрому (IL-6 на 41,2% та TNF- α на 45%), що свідчить про незмінність проявів ревматологічного синдрому на фоні проведеного лікування.

4. Відсутність будь-якого спеціального лікування у хворих на РЛ сприяє різкому зростанню рівня цитокінів через 1 міс, більш вираженому в пацієнтів з РЛ з проявами ПНРС: IL-6 — на 99,3% та рівня TNF- α — на 88,1%, що цілком підтверджує прогресування як РЛ, так і проявів ПНРС.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бережная Н.М. (2009) Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Клетки и цитокины — участники воспаления. Онкология, 11(1): 6–17.

2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. (2005) Иммунология злокачественного роста. Киев: Наук. думка, 792 с.
3. Блюм Н.Е., Антонов А.Р., Асадуллина Р.Р. и др. (2006) Особенности цитокинового баланса при хронической обструктивной болезни легких. Росс. мед. журн., 14(22): 34–39.
4. Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А. (2001) Клиническая иммунология: руководство для врачей. Санкт-Петербург: Питер, 576 с.
5. Кашкин П.К. (1999) Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность. Клин. лаборат. диагностика, 11: 21–32.
6. Криничка И.Я., Яремчук О.З. (2012) Роль системы фактора некроза опухолей-альфа в развитии экспериментального гепатопульмонального синдрома. Эксперимент. та клін. фізіологія і біохімія, 58(2): 28–34.
7. Кричевская О.А., Клоквина Н.Г., Александрова Е.Н. и др. (2005) Фактор некроза опухоли α и его растворимые рецепторы при ревматических заболеваниях: клиническое и патогенетическое значение. Науч.-практ. ревматология, 2: 43–46.
8. Лактионов К.К., Давыдов М.И., Полоцкий Б.Е. и др. (2006) Прогностические и предсказывающие факторы у больных немелкоклеточным раком легкого. Практ. онкол., 7(3): 145–153.
9. Прохоренко Т.С., Саприна Т.В., Лазаренко Ф.Э. и др. (2011) Система фактора некроза опухоли α в патогенезе аутоиммунного сахарного диабета. Бул. сиб. мед. журн., 1: 64–69.
10. Разумный Р.В. (2009) Показники фагоцитарної активності макрофагів та цитокіновий профіль бронхоальвеолярного секрету у хворих на негоспітальну пневмонію, сполучену із стеатозом печінки. Укр. пульмонолог. журн., 4: 62–66.
11. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. (2008) Роль цитокинов в воспалительном процессе. Сиб. мед. журн., 6: 5–8.
12. Coussens L.M., Werb Z. (2002) Inflammation and cancer. Nature, 420: 860–867.
13. Ghazizadeh M. (2007) Essential role of IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis. J. Nippon. Med. Sch., 74(1): 11–22.
14. Jones S.A., Horiuchi S., Topley N. et al. (2001) The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. FASEB, 15: 43–58.
15. Lockett-Chastain L., Gallucci R. (2009) Interleukin (IL)-6 modulates transforming growth factor- β expression in skin and dermal fibroblasts from IL-6-deficient mice. Br. J. Dermatol., 161(2): 237–248.
16. Mitnick H.J. (2000) Paraneoplastic rheumatic syndromes. Curr. Rheumatol. Rep., 2: 163–170.
17. Tan T.T., Coussens L.M. (2007) Humoral immunity, inflammation and cancer. Curr. Opin. Immunol., 19(2): 209–216.

Изменения содержания провоспалительных цитокинов в крови больных раком легкого под влиянием специального лечения

С.А. Лысенко¹, С.И. Киркилевский²

¹Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова

²Национальный институт рака, Киев

Резюме. Исследование посвящено изучению и сравнительному анализу уровня провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) в крови у больных раком легкого (РЛ). Вывявлено, что у пациентов с РЛ с проявлениями паранеопластического ревматологического синдрома (ПНРС) уровень IL-6 и TNF- α выше на 81,1 и 97,7% соответственно по сравнению с аналогичными значениями у больных без данного синдрома. Установлено, что только у пациентов с РЛ с ПНРС под влиянием хирургического лечения происходит достоверное снижение уровня IL-6 на 69,5% и TNF- α на 53,4%, что свидетельствует о регрессии симптомов ПНРС после радикальных операций. При использовании специального консервативного лечения выявляют достоверное повышение уровня цитокинов в динамике у больных РЛ обеих групп, что свидетельствует о неизменности проявлений ПНРС на фоне проводимого лечения. Отсутствие специального лечения способствует резкому повышению уровня цитокинов через 1 мес, более выраженному у больных РЛ с проявлениями ПНРС: IL-6 на 99,3% и TNF- α на 88,1%, что полностью подтверждает прогрессирование как РЛ, так и проявлений ПНРС.

Ключевые слова: IL-6, TNF- α , рак легкого, паранеопластический ревматологический синдром, радикальное хирургическое лечение, специальное консервативное лечение.

Changes in the level of pro-inflammatory cytokines in the blood of patients with lung cancer under the influence of special treatment

S.A. Lysenko, S.I. Kirikilevsky

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsa
National Cancer Institute, Kyiv

Summary. Research is devoted to the study and comparative analysis of the levels of pro-inflammatory cytokines interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels in patients with lung cancer (LC). It is revealed that LC patients with paraneoplastic rheumatological syndrome (PNRS) the level of cytokines are increased IL-6 by 81,1% and TNF- α by 97,7% respectively in comparison with approximate values of cytokines in patients without PNRS. It is also established that only in surgical treatment the patients with LC with PNRS, there is a significant decrease of IL-6 by 69,5% and TNF- α by 53,4%, which indicates decreasing symptoms of PNRS after radical surgery. In special conservative treatment there is a significant increase in the dynamics of cytokines in patients of both groups (with and without PNRS), indicating consistent PNRS on the therapy. The lack of special treatment leads to sharp increase in cytokines in a 1 month (more pronounced in patients with PNRS) IL-6 by 99,3% and TNF- α by 88,1%, which fully supports the progression of LC as well as PNRS manifestations.

Key words: IL-6, TNF- α , lung cancer, paraneoplastic rheumatological syndrome, radical surgery, special conservative treatment.